动 物 学 研 究 1998, 19 (1): 11—16　　CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

草鱼头肾免疫细胞组成和数量变化*

卢全章
(中国科学院水生生物研究所 武汉 430072)

摘要 通过光镜和电镜观察发现，草鱼（*Ctenopharyngodon idellus*）头肾器官有两种静脉（头肾静脉和门静脉）和丰富的血窦。淋巴细胞主要分布在门静脉及其血窦周围，形成淋巴细胞聚集区。粒细胞主要分布在头肾静脉及其血窦周围，形成粒细胞聚集区。头肾含有大量的免疫细胞，其中淋巴细胞约占 62.2%，粒细胞约占 36.6%，单核细胞和巨噬细胞约占 1.2%。本研究检测了不同生长发育期的草鱼头肾器官重量及其免疫细胞数量。结果说明草鱼头肾器官重量随体重和鱼龄（特别是体重）的增加而增加，头肾免疫细胞总数则随头肾重量增加而相应增加，但是每毫克头肾组织的免疫细胞数则通常是稳定在 100—132 万个之间，均值 117.3（±9.98）万个。

关键词 草鱼，头肾，免疫细胞
中图分类号 Q959 468

头肾是硬骨鱼类特有的重要淋巴器官。现有的文献表明硬骨鱼类的头肾中含有 B 淋巴细胞（Smith 等，1967；Rijkers 等，1980；Lamers 等，1985；Razquin 等，1990）、T 淋巴细胞（Baba 等，1988；卢全章等，1993）和各种粒细胞（Taguchi，1975；Suwa，1977；Bigaj 等，1987）等免疫细胞。表明头肾对鱼类免疫具有很重要的作用。因此，弄清头肾器官的组织结构、免疫细胞及其免疫功能，对鱼病防治很有意义。然而，国内关于这方面的研究很少，国外虽有一些研究，但比较零碎，还有许多不明之处需研究。特别是对我国主要养殖鱼类之一的草鱼的头肾器官更是缺乏研究。

本研究的目的，主要是搞清草鱼头肾组织中免疫细胞的分布、种类组成、头肾重量及其与免疫细胞数量变化之间的规律。

1 材料和方法

试验鱼：取自本所养殖场养殖的正常草鱼。有当年、Ⅰ龄、Ⅱ龄、Ⅲ龄、Ⅳ龄和Ⅵ龄草鱼，总共 100 多尾。

头肾重量及其免疫细胞总数的测定：试验鱼先称体重然后断尾放血，用无菌操作进行解剖，取出全部头肾组织，分析天平称重。再取一定量的头肾组织，用无菌剪刀剪碎，过不锈钢筛，无菌 Hanks 液洗下，100 目的尼龙网过滤，制成一定浓度的细胞悬液，立即采用血细胞计数板计数。免疫细胞总数包括全部淋巴细胞、粒细胞、单核细胞、巨噬细胞等所有白细胞。

* 国家自然科学研究基金资助项目
本文 1996-09-25 收到，1997-05-13 修回

头肾免疫细胞分类计数：采用头肾印迹片，Giemsa 染色，按印迹片自然分布计数 1000—2000 个免疫细胞，进行分类统计。

光镜组织标本制作：采用 Bouins 液固定，常规石蜡包埋，4—5 μm 厚切片，HE 染色。头肾印迹片采用 Giemsa 染色。

电镜组织标本制作：用 3%的戊二醛卡可酸钠缓冲液作前固定，1%的锇酸作后固定，酒精系列脱水，树脂包埋，超薄切片，电子染色后用透射电镜观察。

2 结果

2.1 草鱼头肾及其免疫细胞分布

草鱼头肾位于胸腔内咽退缩肌上方两侧，围绕心腹隔膜前面的食道背面和两侧分布。头肾呈扁平状，分左右两叶，两叶头肾在基部相连。头肾基部组织通过第 4 脊椎横突基部和横隔骨片（悬器）基部两侧的小圆孔，与腹腔内肾脏组织的最前端相连接（图版Ⅰ：1，2）。心腹隔膜前为头肾，心腹隔膜后为肾脏。

头肾无被膜，外周仅有一层胶原纤维包裹。组织切片观察，头肾实质中无肾单位，完全属于网状淋巴组织。主要由网状细胞、淋巴细胞、粒细胞、单核细胞、巨噬细胞等细胞组成。头肾中有动脉、静脉和丰富的血窦，窦腔较大，与静脉相通。头肾静脉分两种：第 1 种静脉（图版Ⅰ：3，4），在内皮细胞外具有较薄的结缔组织，有时可见肌纤维，微静脉仅一层内皮细胞。第 2 种静脉，在静脉内皮细胞外分布有大量的腺上皮细胞（图版Ⅰ：3，5；图版Ⅱ：7）。该细胞为多角形，其核为圆形，位于细胞中央，有的可见核仁。细胞质丰富，有大量的线粒体和粗面内质网。在细胞的一端，有时可见一些电子致密度低、折光性强的小颗粒（图版Ⅱ：7，9），表明该细胞具有腺细胞的特点。头肾实质含有大量淋巴细胞和粒细胞（图版Ⅱ：8）。淋巴细胞主要分布在第 1 种静脉及其窦状隙周围，形成淋巴细胞聚集区（图版Ⅰ：3，4）。由于淋巴细胞聚集，HE 染色显示蓝紫色。而粒细胞主要分布在第 2 种静脉及其血窦周围，形成粒细胞聚集区，HE 染色显示较淡的颜色（图版Ⅰ：3，5）。粒细胞胞体为圆形或椭圆形，细胞核偏于一侧，或长圆形、肾形，极少数为分叶核，细胞质丰富，有不同形状的特殊颗粒。淋巴细胞聚集区和粒细胞聚集区之间是连续的，并没有发现界限之类结构。

表 1 头肾免疫细胞种类和数量

Table 1 Kinds and numbers of immune cells in head kidney of grass carp

月 龄	免疫细胞总数（万个）	淋巴细胞（%）	粒细胞（%）	单核、巨噬细胞（%）
6	14568.5	59.8	37.7	2.5
18	171893.3	67.5	32.0	0.5
32	478712.3	63.3	35.7	1.0
42	648060.3	58.0	41.1	0.9
均值		62.2	36.6	1.2

在草鱼头肾中发现有分散的甲状腺滤泡（图版Ⅱ：6），滤泡中间是红染的胶状分泌物，周围衬一层扁平的分泌细胞，细胞核长圆形，细胞质呈弱嗜碱性。它主要分布在淋巴细胞区。

2.2 头肾免疫细胞种类组成

头肾的细胞分类计数见表 1。由表 1 可见头肾免疫细胞主要由淋巴细胞和粒细胞组成（图版Ⅱ：8)、其中淋巴细胞约占 62.8%、粒细胞约占 36.6%、单核细胞和巨噬细胞占 1.2%左右。

2.3 草鱼头肾器官重量和免疫细胞数量变化

草鱼各年龄段头肾重量和免疫细胞总数的检测结果见表 2。

表 2　头肾器官重量及其免疫细胞数量

Table 2 The weight of head kidney organ and total quantity of its immune cells

月 龄	检测鱼数（尾）	体重（g）	头肾重（mg）	免疫细胞总数（万个）	免疫细胞／头肾（万个／mg）
2	16	5.4	19.0	1967.0	103.5
3	10	11.8	25.8	3112.0	126 2
4	10	24.9	51.3	5946.5	115.9
5	10	38.7	99.1	9773.0	98.7
6	10	94.1	126.4	14568.5	115.3
7	10	44.9	138 4	16412.5	118.6
9	10	46.2	133.3	16405.0	123.1
12	10	65.2	165.4	17005.3	102.8
24	5	379 6	554.8	67755.3	111.3
17	8	33.2	77.8	8417.5	123.1
18	5	754.0	1542.2	178193 3	115.5
32	5	1579.0	3690.9	47812.3	129.7
42	3	2933 0	5152 0	648060.3	125.8
72	1	8500.0	10558 0	1396457.0	132.3

3 讨论

草鱼头肾与肾脏的最前端有组织学联系（图版Ⅰ：1)，但无肾单位，无排泄功能。头肾有丰富的静脉和血窦，窦腔较大，头肾器官实质明显地可分为淋巴细胞聚集区和粒细胞聚集区。这表明头肾是既不同于肾实质、也不同于肾间质的典型的淋巴组织。它具有造血和免疫功能。

本文中所描述的草鱼头肾中的两种静脉与 Imagawa 等（1990）关于鲤鱼头肾血管系统的研究报道一致。第 1 种静脉是门静脉、从鱼体尾区进入。第 2 种静脉可称之为头肾静脉，由头肾回流到后主静脉，进入血液循环。淋巴细胞主要分布在门静脉及其血窦附近，有利于捕捉外来物质和抗原呈递。粒细胞主要分布在周围有许多腺细胞的头肾静脉及其血窦的周围。根据 Imagawa 等（1990）报道，覆盖在头肾静脉内皮细胞外的腺细胞是类固醇产生细胞和嗜铬细胞。作者观察了这类细胞的显微和超微结构（图版Ⅱ：7，9)、表明它具有腺细胞的特点。粒细胞的这种生态学分布特点、可能有利于粒细胞本身的分化、成熟和直接进入血液循环。这些分泌细胞（腺细胞）与粒细胞的分化、成熟究竟有何关系，尚不清楚，有待进一步研究。

由表 1 可见、草鱼头肾免疫细胞主要由淋巴细胞和不同类型的粒细胞组成。其中淋巴细胞约占头肾免疫细胞总数的 62.2%，粒细胞数量仅次于淋巴细胞、约占头肾免疫细胞总数的 36.6%。就其绝对数量而言、2 月龄草鱼头肾粒细胞约有 710 万个、12 月龄草

鱼约有6224万个，24月龄草鱼约有2.28亿个，42月龄草鱼可达23.7亿个。这表明头肾器官是草鱼粒细胞发生的主要器官。

本研究检测了不同鱼龄（包括当年鱼种、Ⅰ龄、Ⅱ龄、Ⅲ龄、Ⅳ龄和Ⅵ龄草鱼）的头肾重量和免疫细胞（包括淋巴细胞、粒细胞、单核细胞、巨噬细胞在内的所有白细胞）数量。从表2结果可见，草鱼头肾器官的重量基本上是随体重和鱼龄的增加而增加。但是在不同养殖条件下，即使是相同鱼龄，其头肾器官的重量的差别很大。养殖条件好，鱼体增重快，头肾重量增加也快。因此，头肾器官的重量增长与鱼体重增长的关系比同鱼龄的关系更密切。头肾重量与鱼体重成正比关系。在某种意义上说，头肾重量反映了鱼的生长情况。

头肾免疫细胞总量基本上是随头肾器官重量的增加而相应增加。65.2 g的Ⅰ龄草鱼头肾免疫细胞总数约有1.7亿个，2933 g的Ⅳ龄草鱼头肾免疫细胞总数可达64.8亿个。但是，每毫米头肾重的免疫细胞数，则无论是幼鱼还是成鱼，也不管鱼体生长好坏，通常都相对地稳定在100—132万个之间，均值117.3（±9.98），变异系数为8.5%。例如3月龄草鱼头肾重25.8 mg，Ⅳ龄草鱼头肾重5152 mg，而每毫克头肾重的免疫细胞数量，则分别为126.2和125.8万个。表1中的17月龄草鱼生长很差，18月龄草鱼生长正常，两者的鱼龄接近，但是头肾重量却相差很大，分别为77.8 mg和1542.2 mg，然而每毫克头肾重量的免疫细胞数则分别为123.1万个和115.5万个。这表明，草鱼头肾器官不像草鱼胸腺器官那样有因鱼龄和营养等条件而引起的退化（表现为结缔组织、脂肪细胞增生，每毫克胸腺重的免疫细胞数值下降）现象（卢全章，1990）。

图 版 说 明

图版Ⅰ：

1 夏花草鱼纵切面（vertical section of summer fingerling）HK：头肾（head kidney）；K：肾脏（kidney）；A：鳔（air-bladder）；P：后咽(postpharynx)；V：脊椎（vertebral column）。HE，×30

2 夏花草鱼头部纵切面(vertical section of head region in summer fingerling) HK：头肾(head kidney)；T：胸腺(thymus)；Ps：伪鳃(pseudobranch)；G：鳃(gill)；H：心脏(heart)；P：后咽(postpharynx)。HE，×30

3 头肾组织切片（sectioned preparation of head kidney）LR：淋巴细胞聚集区(lymphocyte aggregate region)；GR：粒细胞聚集区(granulocyte aggregate region)；PV：门静脉(portal vein)；HV：头肾静脉(head-renal vein)。HE，×100

4 淋巴细胞聚集区放大（enlarged view of lymphocyte aggregate region）L：淋巴细胞(lymphocytes)；PV：门静脉(portal vein)。HE，×750

5 粒细胞聚集区放大（enlarged view of granulocyte aggregate region）G：粒细胞(granulocytes)；HV：头肾静脉(head-renal vein)；GC：腺细胞(gland cells)。HE，×350

图版Ⅱ：

6 头肾组织中甲状腺滤泡（follicle of thyroid gland in head kidney），HE，×300

7 头肾静脉外周腺细胞放大（perpheral gland cells of head-renal vein）HV：头肾静脉(head-renal vein)；GC：腺细胞(gland cell)。HE，×880

8 头肾印迹片（imprint preparation of head kidney）G：粒细胞(granulocytes)；M：单核细胞(monocytes)；L：淋巴细胞(lymphocytes)。Giemsa，×1050

9 腺细胞电镜照片（gland cells of electron micrograph）HV：头肾静脉(head-renal vein)；GC：腺细胞(gland cell)。×7200

参 考 文 献

卢全章，1991. 草鱼胸腺组织学研究. 水生生物学报，15(4)：327—332.

卢全章，聂　品，1993. 草鱼胸腺和头肾细胞在抗*Aeromonas punctata* 感染中的免疫作用 鱼病学研究论文集（第一辑）. 北京：海洋出版社. 37—45.

Baba T, Imamura J, Izawa K *et al*, 1988 Cell-mediated protection in carp against *Aeromonas hydrophila*. *J. Fish Disease*, 11(2): 171-179.

Bigaj J, Dulak J, Plytycz B, 1987. Lymphoid organs of *Gasterosteus aculeatus* *J. Fish Biol.*, 31(Suppl A): 371-382.

Imagawa T, Hashimoto Y, Kon Y *et al*, 1990. Vascularization and related distribution of leucocytes in carp, *Cyprinus carpio*, head kidney. *J. Fish Biol.*, 37: 357-366.

Lamers C H J, de Haas M J H, 1985. Antigen locatization in the lymphoid organs of carp (*Cyprinus carpio*). *Cell Tissue Research*, 242: 491-498.

Razquin B E, Castillo A, Lopez-Fierro P *et al*, 1990. Ontogeny of IgM-producing cells in the lymphoid organs of raibow trout, *Salmo gairdneri* Richardson: an immuno-and enzyme-histochemical study. *J. Fish Biol.*, 36: 157-173.

Rijkers G T, Frederix-Wolters E H, Van Muiswinkel W B, 1980. The immune system of cyprinid fish, kinetics and temperature dependence of antibody-producing cells in carp (*Cyprinus carpio*). *Immunology*, 41: 91-97.

Smith A M, Potter M, Merchant E B, 1967 Antibody-forming cells in the pronephros of the teleost, *Lepomis macrochirus*. *J. Immunology*, 99: 876-882.

Suwa T, 1977. Granulocytopoiesis in the head kidney of carp (*C. carpio*). *J. Med. Soc. Toho. Japan.*, 24: 222-235.

Taguchi T, 1975. Hemopoiesis of granulocytes in the head kidney of funa, *Carassius carassius*. *J. Med. Soc. Toho Japan.*, 22: 55-64.

THE COMPOSITION OF IMMUNE CELLS IN HEAD KIDNEY OF GRASS CARP (*Ctenopharyngodon idellus*) TOGETHER WITH ONTOGENIC CHANGE OF THEIR NUMBERS

LU Quan-zhang

(*Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences Wuhan* 430072)

Abstract

Under light and electron microscope, the head kidney of grass carp was found to have two type of veins: head-renal and portal veins, and a number of sinusoids with extensive lumina. The lymphocytes of head kidney were distributed around portal veins and its sinusoids, forming lymphocyte aggregate region, while granulocytes distributed around head-renal veins and its sinusoids, forming granulocyte aggregate region. The head kidney contained a number of immune cells, comprised approximately 62.2% lymphocyte, 36.6% granulocytes, 1.2% monocytes and macrophages.

The weight of head kidney organ and amounts of its immune cells were examined for each grow stage of grass carp. It was shown that total weight of head kidney increased with body weight and age. However, The development of the head kidney correlates better with

weight than with age. Total number of immune cells of head kidney increased correspondingly with head kidney weight. In general, the number / mg weight of head kidney stabilized from 100 to 132 ten thousand, the mean was 117.3 (±9.98) ten thousand.

Key words Grass carp, Head kidney, Immune cells

* * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

"蛇伤急救药盒及蛇伤综合治疗研究"获云南省科技进步一等奖

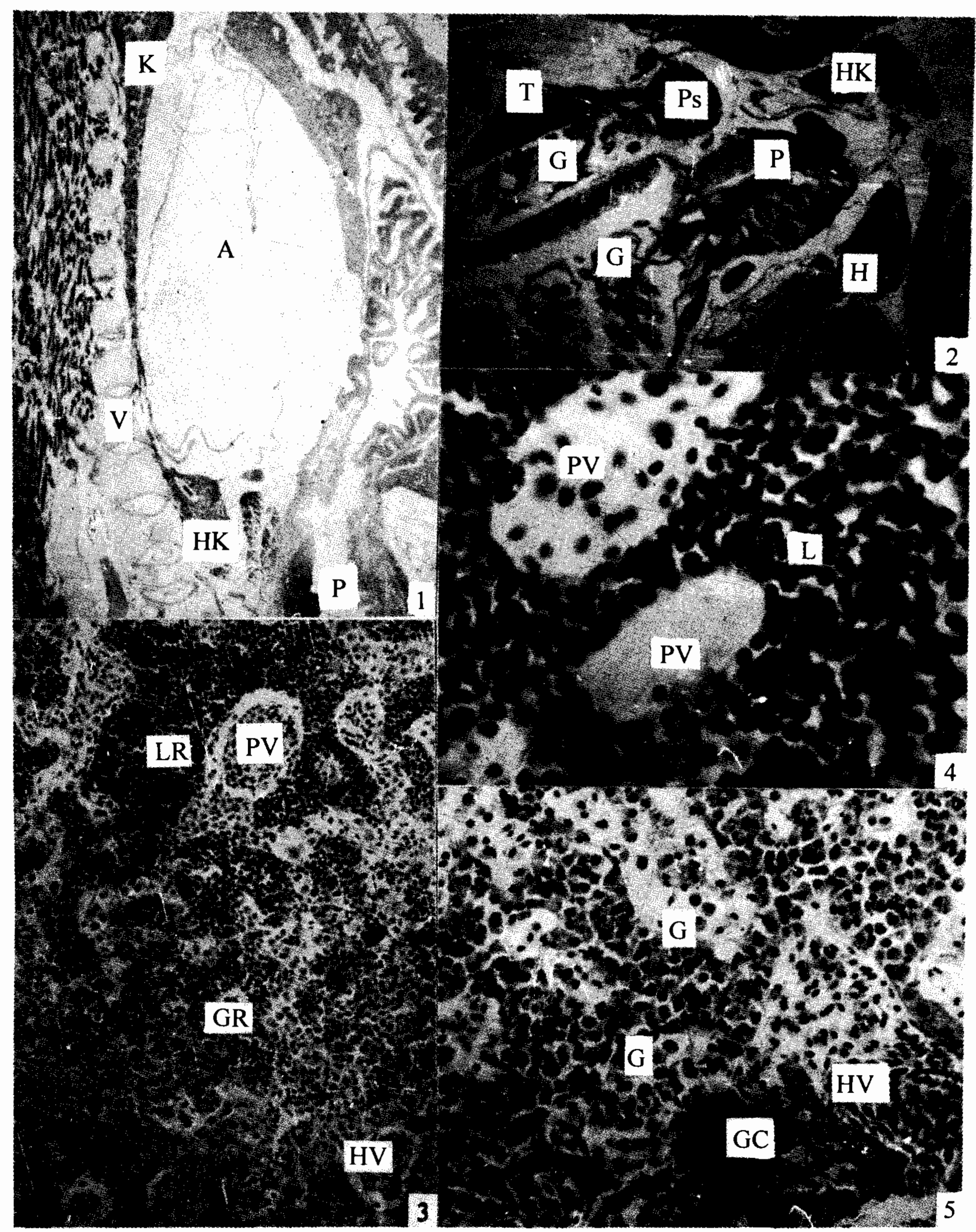
蛇伤是一种热带、亚热带地区的常见伤害，具有毒性发作紧急、死亡快等特点。据世界卫生组织统计，全世界每年遭毒蛇咬伤的人数约有30—50万人，死亡率5%—10%。仅印度每年被毒蛇咬伤人数就达3万人。蛇伤不仅对生命造成威胁，其后遗症组织坏死常常导致截肢残废。目前国际上采用抗蛇毒血清治疗毒蛇咬伤，虽然具有较好的治疗作用，但有局限性。其主要缺点是专一特性，即一种蛇毒血清只能治疗同种毒蛇咬伤。在毒蛇种类繁多地区造成诊断和治疗上的困难。加之血清副反应严重，抗血清的生产、保存（需低温保存）不方便，不适于野外急救、自救。而中草药治疗蛇伤大部分属对症治疗，用药量大，疗效低，疗程长。

由中国科学院昆明动物研究所熊郁良研究员领衔研制的"蛇伤急救药盒"是在蛇伤药理学研究的基础上，把蛇毒结构与功能及临床研究紧密结合，以酶切技术为主，配合中西医结合治疗方法研制成功的。该药盒对各种毒蛇咬伤均具有疗效，是一种广谱性的急救、自救药盒。其特点是高效、速效、便于携带和保存、使用简单方便。特别适合于野战部队、广大农村和野外工作者作为蛇伤防治的常备药盒。

经十余年，数千例蛇伤患者临床应用，总有效率达99.9%以上。该研究成果先后在世界毒素会议、亚太地区毒素会议上报告，得到与会专家的认可和好评。目前该项成果已获专利证书和生产批文，具有显著的社会效益和经济效益，荣获1997年云南省科技进步一等奖。

杨若云

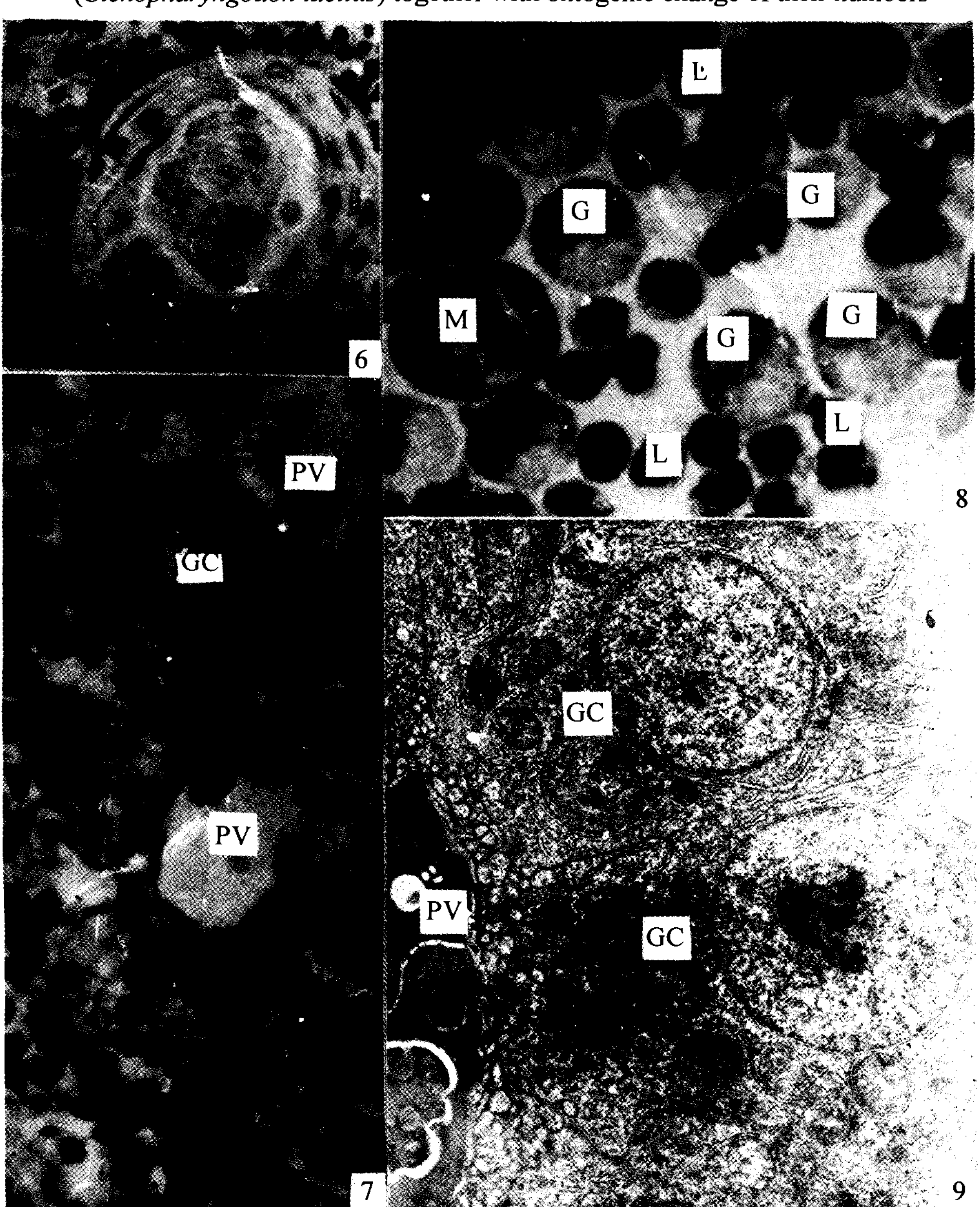
（中国科学院昆明动物研究所计划处 650223）



（图版说明见正文）

卢全章：草鱼头肾免疫细胞组成和数量变化　　图版 II

LU Quan-zhang: The composition of immune cells in head kidney of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) together with ontogenic change of their numbers



（图版说明见正文）